Zur Deutung des semilunaren Fortpflanzungszyklus von Dictyota dichotoma

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
VERA VIELHABEN
aus Hamburg

1963

17555

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juli 1963
Dekan: Prof. Dr. G. Möllenstedt
1. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Bünning
2. Berichterstatter: Prof. Dr. K. Mägdefrau

Nicht einzeln im Buchhandel

Überreicht vom Verfasser

Sonderdruck aus der

Zeitschrift für Botanik

51. Band Heft 2

Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1963

Zur Deutung des semilunaren Fortpflanzungszyklus von Dictyota dichotoma

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen)

Von

Vera Vielhaben

Mit 11 Abbildungen

Eingegangen am 22. April 1963

Einleitung

Die Anpassung physiologischer Prozesse an den Gezeiten- oder den diesem übergeordneten Mondphasenwechsel ist für viele pflanzliche und tierische Meeresorganismen ein bekanntes Phänomen (Zusammenfassungen: Caspers 1951; Cloudsley-Thompson 1961; Bünning 1963). Es handelt sich dabei entweder um die rhythmische Änderung der Stoffwechsel- oder Bewegungsaktivität entsprechend dem Wechsel von Hoch- und Niedrigwasser (Gezeitenrhythmik), oder aber um die Synchronisierung bestimmter Prozesse, etwa der Fortpflanzung, mit den vom Mondphasenwechsel gesteuerten Zyklen der Spring- und Nipptiden, so daß sich physiologische Rhythmen mit Perioden von etwa 14—15 (semilunar) oder etwa 29 Tagen ergeben. Als Zeitgeber für die Gezeitenrhythmik werden verschiedene Faktoren, wie z. B. die Turbulenz des Wassers oder die Änderung des hydrostatischen Drucks genannt (Enright 1963). Für einige lunarperiodische Fortpflanzungszyklen muß das Mondlicht als steuernder Faktor angenommen werden (Hauenschild 1955, 1960; Müller 1962).

Die Fähigkeit der Einhaltung dieser längeren Perioden von z. B. 14—15 Tagen scheint auf einer Wechselbeziehung der endogenen Tagesrhythmik und der Gezeitenrhythmik zu beruhen (Fingerman 1960; Bünning u. Müller 1961). Versuche an der Strandkrabbe *Carcinus maenas* konnten durch die Periodenanalyse der Laufaktivität eine 24stündige (endodiurnale) und eine $2 \times 12{,}4 = 24{,}8$stündige, den Gezeiten entsprechende Komponente nach-

weisen (Blume, Bünning u. Müller 1962; vgl. auch Naylor 1958, 1960). Das Zusammenwirken beider führt durch die Differenz der Periodenlängen, $2 \times 12{,}4 = 24{,}8 - 24{,}0 = 0{,}8$ Stdn., nach 15 Tagen zu einem Zustand der Phasengleichheit, also zu einer ‚Schwebung'. Dieses Zusammenfallen entsprechender Phasen beider Schwingungskomponenten nach jeweils ungefähr 15 Tagen könnte das Zeitmessungsprinzip für die semilunare Periodik sein.

Nachdem für mehrere tierische Objekte eine endogene Gezeitenkomponente mit einer Periodenlänge von ungefähr 12,4 bzw. 24,8 Stdn. in der Stoffwechsel- oder der Bewegungsaktivität gefunden wurde, lag es nahe, auch bei Algen der Gezeitenzone nach einer solchen Komponente zu suchen. Nach den experimentellen Untersuchungen von Müller (1962) bot sich die Braunalge *Dictyota dichotoma* mit ihrem semilunarperiodischen Verhalten bei der Oogonentleerung als günstiges Versuchsobjekt an. Im Folgenden wird daher zunächst die steuernde Wirkung des Mondlichtes auf die periodische Eientleerung dieser Alge genauer analysiert. Ferner soll die Beteiligung einer endodiurnalen und einer durch das Mondlicht gesteuerten Komponente mit den Gezeiten entsprechender Periodenlänge am Zustandekommen des semilunaren Zyklus der Oogonentleerung aufgezeigt werden.

Material und Methodik

Das Versuchsobjekt, die Braunalge *Dictyota dichotoma*, abstammend von einer Helgoländer Tetrasporophytenpflanze, wird seit 1959 im Botanischen Institut kultiviert. Seit 1961 wurden nur noch die weiblichen Gametophyten vegetativ vermehrt und für die folgenden Unterschungen verwendet, da sich die periodische Entleerung der Oogonien besonders gut verfolgen und auswerten läßt.

Anzucht: Die Kulturen befanden sich ständig in Klimakammern bei konstanter Temperatur von $20^0 \pm 0{,}5^0$ C, in einem Licht-Dunkelwechsel (abgekürzt: LD-Wechsel) von 14 : 10 Stunden und bei einer Beleuchtungsstärke von 1200 Lux (Leuchtstoffröhren, abwechselnd OSRAM : HNT und HNW-Röhren). Die Thallusstücke wurden in Kulturschalen (50 mm Höhe und 80 mm Durchmesser), etwa 2 cm hoch mit steriler Erdschreiberlösung (jedoch statt 50 ml nur 20 ml Erddekokt je l Seewasser) gefüllt, gehalten. Die direkt im Versuch befindlichen Pflanzen wurden täglich in frische Nährlösung übertragen, um die Anzahl der ausgeschütteten Eier auszählen zu können. Die Algen zeigten bei dieser Behandlung gleichmäßiges Wachstum und konnten durch Zerteilung der Thallusstücke gut vegetativ vermehrt werden.

‚Nachtlicht'quellen: Wenn nicht besonders angegeben, wurde zur Steuerung der Oogonentleerungs-Zyklen eine der Dunkelperioden durch eine Lichtperiode ersetzt, und zwar durch Weißlicht von 1200 Lux. Kürzer dauerndes Störlicht wurde ebenfalls mit Weißlicht von 1200 Lux geboten. Diese Lichtgaben in bzw. an Stelle der Dunkel-(‚Nacht'-)zeiten entsprechen der normalen Mondwirkung (vgl. Müller), obwohl die Lichtintensitäten natürlich wesentlich höher als die des Mondlichtes sind. In besonderen Versuchen jedoch wurde die Lichtintensität durch Neutralgläser (10 % und 1 % Durchlässigkeit) bis zu 0,3 Lux verringert.

Das Abtasten der Wirksamkeit einzelner Spektralbereiche geschah in der Monochromatoranlage nach MOHR und SCHOSER (1959) durch Einschalten verschiedener Interferenzlinienfilter der Fa. Schott u. Gen. in den Strahlengang der Projektoren. Die Strahlung war energiegleich; die Energiemessung erfolgte mit einer Kipp-Thermosäule.

Auswertung: Die innerhalb eines lunaren Zyklus von 29 Tagen zweimal auftretenden Maxima der Oogonentleerung wurden durch Auszählen der ausgeschütteten Eier bestimmt. Dazu wurden die nach dem Umsetzen der Thallusstücke in der Kulturschale verbleibenden Eier durch Rühren auf dem Boden verteilt und die Anzahl der Eier/cm² der Bodenfläche ausgezählt. Auf diese Weise wurde auch der genaue Zeitpunkt der Eientleerung im Tagesgang oder nach Störlichtgabe festgestellt.

Messung der Photosynthese-Kapazität: Als gute Methode zur Feststellung einer Veränderung im Stoffwechsel der Alge durch ein einmalig gegebenes Nachtlicht erwies sich die Messung des Einbaus an radioaktiv markiertem $C^{14}O_2$ im Tagesgang. Für diese Versuche wurde jungem, einheitlichem, im 14 : 10 LD-Wechsel gehaltenem Material vor Versuchsbeginn während einer Dunkelperiode ‚Nachtlicht' von 1200 Lux geboten. Am 1., 4., 7. und 11. Tag danach wurden stündlich Proben (ca. 30 Thallusstücke gleicher Größe) zur Bestimmung der Photosynthese-Kapazität entnommen. Vorversuche hatten ergeben, daß nur ein Maximum der Kapazität zur CO_2-Bindung am Tag auftrat, das im Laufe der nächsten Tage sich merklich verschob. Die Dunkelzeiten zeigten ein einheitliches Minimum, so daß bei der Reproduzierung der Versuche die Untersuchung der Dunkelperiode vernachlässigt werden konnte und nurmehr der Bereich der Lichtperiode durch stündliche Probenentnahme zur Bestimmung der $C^{14}O_2$-Einbaurate abgetastet wurde.

Die Proben wurden in Petrischalen mit 20 ml Erdschreiberlösung + 0,1 ml $NaHC^{14}O_3$-Lösung (spez. Akt.: 5 bzw. 25 mC/mM) gefüllt, bei einer Temperatur von 20 ° C und einer Lichtintensität von 10 000 Lux 15 Minuten lang belichtet. Als Lichtquelle diente ein Projektor, dessen Lichtstrahl von einem Spiegel reflektiert wurde und die Petrischale von unten gleichmäßig ausleuchtete. Die Thallusstücke waren so in der Schale verteilt, daß sie sich nicht gegenseitig beschatteten. Nach beendeter Belichtung wurden die Algen in 80 % heißem Aethanol homogenisiert und das Homogenat unter dem Abzug eingedampft, um das nicht eingebaute $C^{14}O_2$ zu entfernen. Nach Erkalten wurde auf ein definiertes Volumen aufgefüllt. Zweimal 0,5 ml wurden davon auf Metallplättchen pipettiert und im Luftstrom getrocknet. Die Anzahl Impulse/min. wurde im Zählgerät (fensterloses Methandurchfluß-Zählrohr in Kombination mit automatischem Probenwechsler der Fa. Friesecke & Höpfner GmbH, Erlangen/Bruck) bestimmt. Der Wert der Selbstabsorption wurde wegen Geringfügigkeit nicht berücksichtigt.

Als Bezugsgröße diente der Stickstoffgehalt der Probe, der nach der Kjeldahl-Methode bestimmt wurde. Die Gesamtzahl Impulse/min. der Probe, bezogen auf den Gesamtstickstoffgehalt, ergibt ein Maß für die Photosynthese-Kapazität der jeweiligen Probe.

Versuche und Ergebnisse

1. Analyse der Nachtlichtwirkung

Seit den experimentellen Befunden von MÜLLER (1962) ist es erwiesen, daß ein einmalig oder alle 29 Tage gebotenes ‚Nachtlicht' die Steuerung der

Oogonentleerung von *Dictyota dichotoma* in einen semilunaren, 14—15tägigen Rhythmus bewirkt. Die Intensität, der günstige Zeitpunkt der Einwirkung während der Dunkelperiode und der wirksame Spektralbereich dieses Lichtreizes sollen hier untersucht werden.

a. Nachtlichtintensität

Bekanntlich beträgt die Intensität des Vollmondlichtes etwa 0,3 Lux. Es muß also, um die Deutung einer entscheidenden Wirkung des Mondlichtes auf die Steuerung der Phasenlage der Oogonentleerung zu rechtfertigen, auch im Laboratoriumsexperiment die Wirkung solcher niedrigen Intensität festgestellt werden. Mit Neutralgläsern wurde eine Verminderung der Lichtintensität auf 0,3 Lux erzielt. Auch diese geringe Intensität bewirkte eine Auslösung der semilunaren Periodik, d. h. am 10. und am 25. Tag nach einer einmaligen Lichteinwirkung während der Dunkelzeit mit der Intensität von 0,3 Lux trat ein Maximum der Eientleerung auf (Abb. 1).

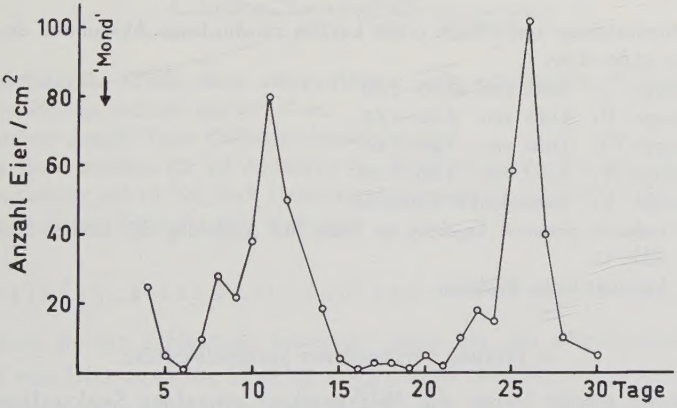


Abb. 1: Auslösung der semilunaren Periodizität der Eientleerung durch einmalige Nachtlichtgabe (Pfeil) mit einer Intensität von 0,3 Lux.
Abszisse: Tage. Ordinate: Anzahl Eier/cm² (einer Kulturschale von 80 mm Durchmesser). Die Kurve bietet mit den beiden Maxima am 10. und 25. Tag nach Nachtlichteinwirkung zugleich ein typisches Bild auch für den Erfolg einer Nachtlichtgabe von höherer Intensität.

Die dargestellte Kurve entspricht denjenigen, die auch nach Nachtlichtgabe mit höheren Intensitäten erhalten werden.

b. Lichtempfindlichkeit einzelner Abschnitte der Dunkelperiode

Es sollte geprüft werden, ob sich innerhalb der Dunkelperiode (‚Nacht') ein bestimmter Zeitpunkt heraushebt, in dem die Alge für die Aufnahme des Lichtreizes besonders empfindlich ist. Dazu wurde einzelnen Versuchsgruppen nicht für die ganze Dunkelzeit von 10 Stdn., sondern jeweils nur für einige Stunden Licht von 1200 Lux gegeben. Bei allen Versuchsgruppen trat am 10. Tag nach einer 2stündigen Nachtlichteinwirkung ein Maximum der Eientleerung auf. Über die ganze Dunkelzeit hinweg muß also die Aufnahme des steuernden Lichtreizes möglich sein (Abb. 2).

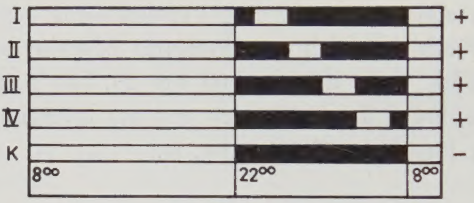


Abb. 2: Lichteinwirkung von 2 Stdn. (1200 Lux) in verschiedenen Abschnitten der Dunkelzeit von 22.00—8.00.
Gruppe I: Licht von 23.00—1.00
Gruppe II: Licht von 1.00—3.00
Gruppe III: Licht von 3.00—5.00
Gruppe IV: Licht von 5.00—7.00
Gruppe K: Dauerdunkel-Kontrolle.
+ bedeutet positives Ergebnis im Sinne der Auslösung der lunaren Rhythmik (wie Abb. 1)
— bedeutet keine Reaktion.

c. Prüfung verschiedener Spektralbereiche

Untersucht wurde ferner die Wirksamkeit einzelner Spektralbereiche auf die Steuerung der Phasenlage der semilunaren Rhythmik. Als Nachtlicht wurde dazu in den einzelnen Versuchsgruppen monochromatisches, energiegleiches Licht (200 erg/cm · sec) verschiedener Wellenlängen in Abständen von ungefähr 50 mμ gegeben. Das Resultat war bei allen Versuchsgruppen das Auftreten eines deutlichen Maximums der Eientleerung nach 10 Tagen (Abb. 3).

Die Alge muß also auf Grund ihrer Pigmentausstattung in der Lage sein, bei der benutzten Intensität des während der Dunkelzeit eingestrahlten Lichtes den erforderlichen Energiebetrag unabhängig von der Wellenlänge (im Bereich von 400—650 mμ) als steuernden Reiz auszuwerten.

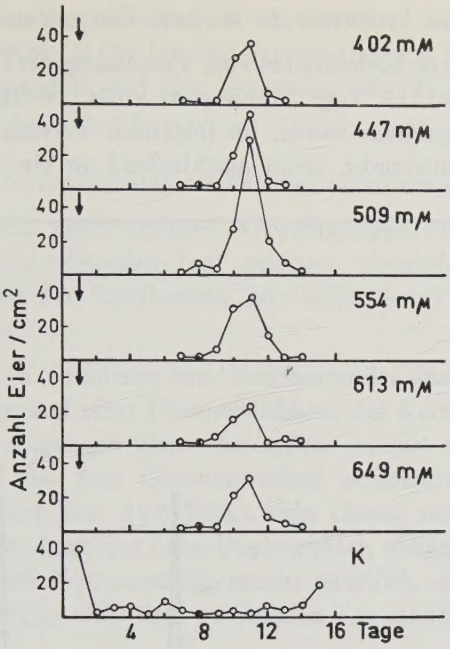


Abb. 3: Nachtlichtgabe (Pfeil) durch energiegleiches Licht verschiedener Wellenlängen von 400—650 mμ und 200 erg/cm² × sec.
Abszisse: Anzahl Tage. Ordinate: Anzahl Eier/cm².
Als charakteristisch für die Auslösung der Rhythmik ist nur das erste Maximum der Eientleerung am 10. Tag nach Nachtlicht dargestellt. Die Kontrolle (ohne Nachtlicht) hat zu diesem Zeitpunkt kein Maximum.

2. Beeinflussung der Periodenlängen durch „falsche" Tage

Wie schon in der Einleitung erwähnt, kann für das semilunarperiodische Verhalten von *Dictyota* eine Überlagerung zweier Schwingungen verschiedener Periodenlängen verantwortlich gemacht werden (vgl. Bünning u. Müller 1961). Dabei handelt es sich um die vom Licht-Dunkelwechsel gesteuerte 24stündige, diurnale Schwingungskomponente und um die 2 × 12,4 = 24,8-stündige, dem Gezeitenwechsel folgende Komponente. Die semilunare Periodik, sich äußernd in der Ausschüttung der Eier in periodischen Abständen von 14—15 Tagen, entstünde dadurch, daß die beiden sich überlagernden Schwingungen zu einem bestimmten Zeitpunkt in gleicher Phase schwingen. Variiert man daher die Periodenlänge einer der beiden Komponenten, in unserem Fall die diurnale, so müßte dieser Zustand der Phasengleichheit, der den Zeitpunkt der Eientleerung angibt, je nachdem früher oder später eintreten.

a. Verkürzung der diurnalen Komponente

Bünning u. Müller beobachteten eine Verkürzung der Periodik der Oogonentleerung auf etwa 13 Tage, wenn statt eines 24-Stunden-Tags nur ein 23,5-Stunden-Tag geboten wurde. Im folgenden Versuch wurde der Verlauf der Eientleerung untersucht, wenn anschließend an ein normales Maximum

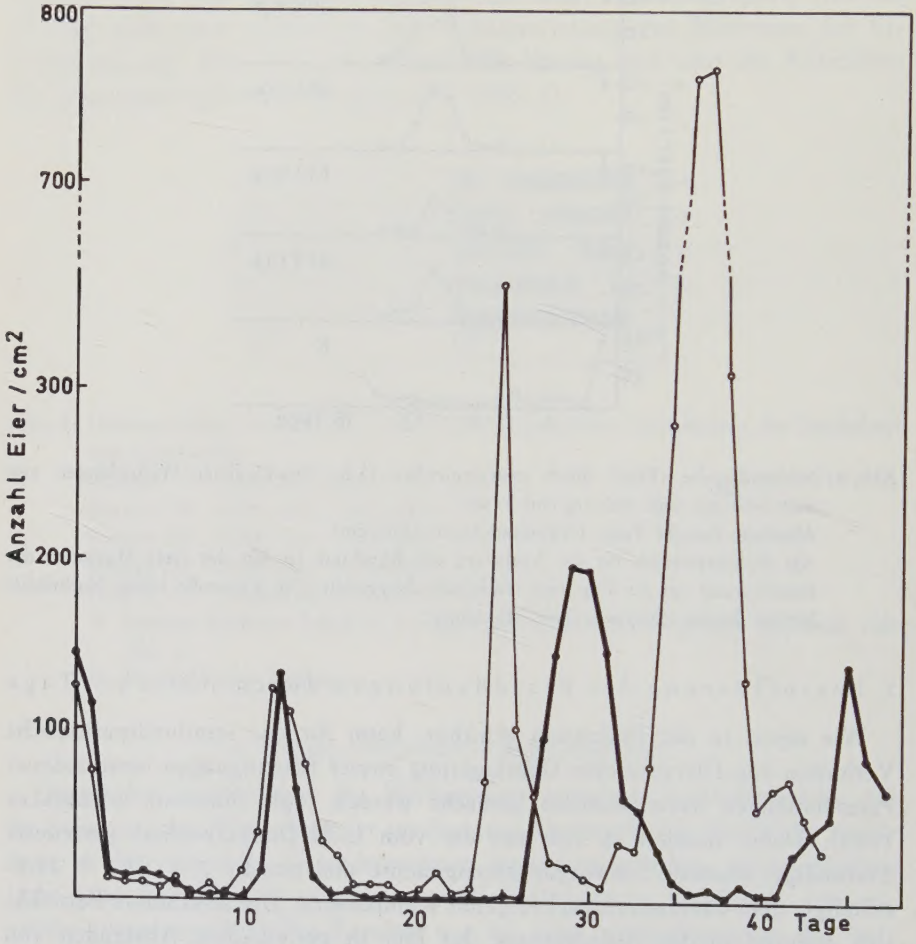


Abb. 4: Oogonentleerung bei Beeinflussung der diurnalen Komponente durch Darbietung verkürzter Licht-Dunkel-Zyklen von 13,5 : 9,5 = 23,0 Std. bzw. verlängerter Licht-Dunkel-Zyklen von 14,25 : 10,25 = 24,5 Std.
Abszisse: Anzahl Tage. Ordinate: Anzahl Eier/cm². Die Kurve mit offenen Kreisen zeigt die periodische Eientleerung bei Darbietung eines 23,0-Std.-Tages, die Kurve mit schwarzen Kreisen und kräftigeren Linien zeigt diese im 24,5-Std.-Tag.

nur ein 23,0-Stunden-Tag (LD-Wechsel von 13,5 : 9,5 Stdn.) gegeben wurde. Das Ergebnis zeigt Abb. 4. Die Maxima der Eientleerung liegen nur noch etwa 11—12 Tage auseinander, sind also gegenüber dem 23,5-Stunden-Tag noch weiter verkürzt.

b. Verlängerung der diurnalen Komponente

Gleichzeitig wurde einer anderen Versuchsgruppe ein LD-Wechsel von 14,25 : 10,25 (= 24,5-Stunden-Tag) geboten. Deutlich treten bei dieser Gruppe die Maxima der Eientleerung erst nach 16—17 Tagen auf. Abb. 4 zeigt die Ergebnisse.

So kann also durch Verkürzen bzw. Verlängern der diurnalen Schwingungskomponente der Zustand einer Phasengleichheit, das Koinzidieren bestimmter Phasen beider Schwingungen eher oder später erreicht werden. Dabei wird vorausgesetzt, daß die dem Gezeitenwechsel entsprechende physiologische Schwingung (von 12,4 bzw. 24,8 Stdn.) nicht ebenso stark wie die diurnale Komponente von der Lage der Licht-Dunkelzyklen abhängt. Für diese später noch zu diskutierende Voraussetzung spricht natürlich, daß dieser Rhythmus sich auch normalerweise nicht dem 24-Stunden-Tag einordnet.

3. Nachweis der ungefähr 24stündigen Komponente

a. Eientleerung im Tagesgang

Die Eientleerung ist innerhalb des 24stündigen Licht-Dunkelwechsels auf eine kurze Zeit unmittelbar nach Lichtbeginn beschränkt. Verfolgt man nun in Abständen von 5 Minuten diesen Vorgang genauer, so zeigt sich, daß die Oogonentleerung immer 20 Min. nach Lichtbeginn einsetzt und schon nach 15 Min. beendet ist (Abb. 5). In der Ausschüttung der Eier ergibt sich also

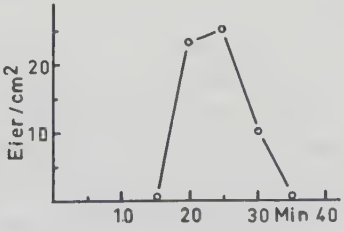


Abb. 5: Darstellung der Eientleerung im Tagesgang, in Abständen von 5 Min. ausgewertet. Mittelwert aus 3 Zählungen.
Abszisse: Min. nach Lichtbeginn. Ordinate: Anzahl Eier/cm².

bei *Dictyota* ein streng tagesperiodisches, vom Licht-Dunkelwechsel gesteuertes Verhalten. Die Phasenlage wird hierbei durch den Übergang von der Dunkel- zur Lichtperiode determiniert. Wird nämlich der Beginn der Lichtperiode um etwa eine Stunde vorverlegt, so tritt entsprechend die Eientleerung um eine Stunde früher ein (siehe Störlichtversuche: Gr. V).

b. Eientleerung im Dauerlicht

Für endogen tagesperiodische Phänomene ist kennzeichnend, daß sich im Dauerlicht (oder Dauerdunkel) eine Fortsetzung der Rhythmik mit eigener, von der 24stündigen Periode abweichender Periodenlänge zeigt. Auch bei *Dictyota* bleibt im Dauerlicht die Periodizität der Eientleerung noch über 3—4 Tage, und zwar mit einer verkürzten Periodenlänge von etwa 23 Stunden erhalten (Abb. 6).

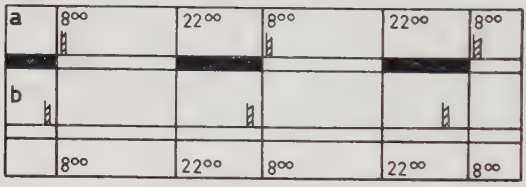


Abb. 6: Tagesperiodische Eientleerung im Dauerlicht (b) von 1200 Lux im Vergleich zur LD-Kontrolle (a).
Die schraffierten Säulen geben den Zeitbereich der Eientleerung an.

c. Eientleerung nach Störlicht während der Dunkelzeit

Analog der Störlichtempfindlichkeit anderer endogen tagesperiodischer Vorgänge sollte auch bezüglich der Eientleerung die Reaktion auf Störlichtgabe während verschiedener Abschnitte der Dunkelzeit ('Nacht') bei anschließendem Dauerdunkel geprüft werden.

Es wurde dazu Material verwendet, das durch Nachtlichtgabe 9 Tage zuvor einheitlich induziert war und in Bereitschaft zur Oogonentleerung stand. Die Dunkelzeit von 22.00—8.00 wurde durch jeweils 2stündige Störlichtgabe mit 1200 Lux abgetastet. Das Verhalten im Vergleich zur Dunkelkontrolle zeigt Abb. 7: Zu Beginn der Dunkelzeit (Gruppe II: Störlicht von 23.00—1.00) ist der Vorgang unempfindlich gegen Störlicht. Ein Ansatz zur Eientleerung findet auch im anschließenden Dauerdunkel zur gewohnten Zeit im Zyklus statt. Gruppe III (Störlicht von 1.00—3.00) zeigt gegenüber dem Lichtbeginn eine etwas verzögerte, 1 Stunde nach Störlichtanfang einsetzende Eientleerung; das

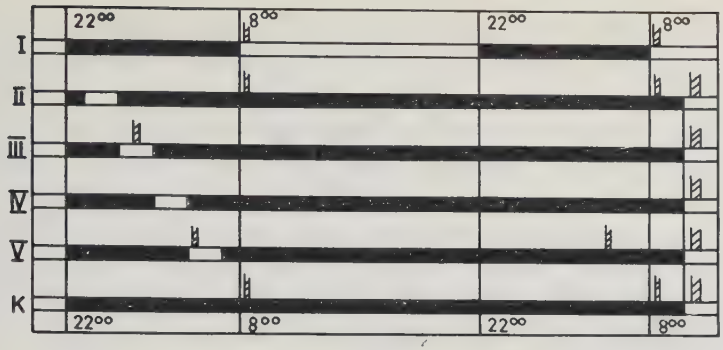


Abb. 7: Darstellung der tagesperiodischen Eientleerung nach 2stündiger Störlichtgabe während einzelner Abschnitte der Dunkelzeit und anschließendem Dauerdunkel.
Gruppe I: LD-Kontrolle
Gruppe II: Störlicht von 23.00—1.00
Gruppe III: Störlicht von 1.00—3.00
Gruppe IV: Störlicht von 3.00—5.00
Gruppe V: Störlicht von 5.00—7.00
Gruppe K: Dauerdunkel-Kontrolle.
Die schraffierten Säulen geben die Zeitspanne der Eientleerung an (im Dauerdunkel werden nur sehr wenige Eier entleert, erst nach Beendigung des Dauerdunkel tritt die vollständige Eientleerung ein).

Störlicht hat aber keinen Einfluß auf den Zeitpunkt der Eientleerung im folgenden Zyklus. Die Pflanzen der Gruppe IV (Störlicht von 3.00—5.00) zeigen keine Reaktion. Bei den Pflanzen der Gruppe V (Störlicht von 5.00 bis 7.00) wird die Eientleerung deutlich in eine neue Phasenlage eingesteuert; auch der anschließende Zyklus ist durch die Störlichtlage beeinflußt.

Beim Übergang vom Dauerdunkel ins Licht trat bei allen Versuchsgruppen unabhängig von der Tageszeit die vollständige Oogonentleerung nach etwa 20 Min. ein. Denn da zu diesem Vorgang Lichtenergie benötigt wird, kann im Dauerdunkel nur der Versuch zur Eiausschüttung (die Anzahl der entleerten Eier ist sehr gering im Vergleich zur LD-Kontrolle) gewertet werden.

Diesem Verhalten bei Störlichtgabe ist zu entnehmen, daß die tagesperiodische Komponente im Bereich einzelner Abschnitte der Dunkelzeit für Störlicht unterschiedlich empfindlich ist. Die größte Störlichtsensibilität besteht gegen Ende der Dunkelzeit. Zu diesem Zeitpunkt wird nicht nur vorübergehende Vorverlegung der Eientleerung wie bei Gruppe III bewirkt, sondern die neue Phasenlage sogar im nächsten Zyklus beibehalten.

4. Nachweis einer ungefähr 24,8stündigen Komponente

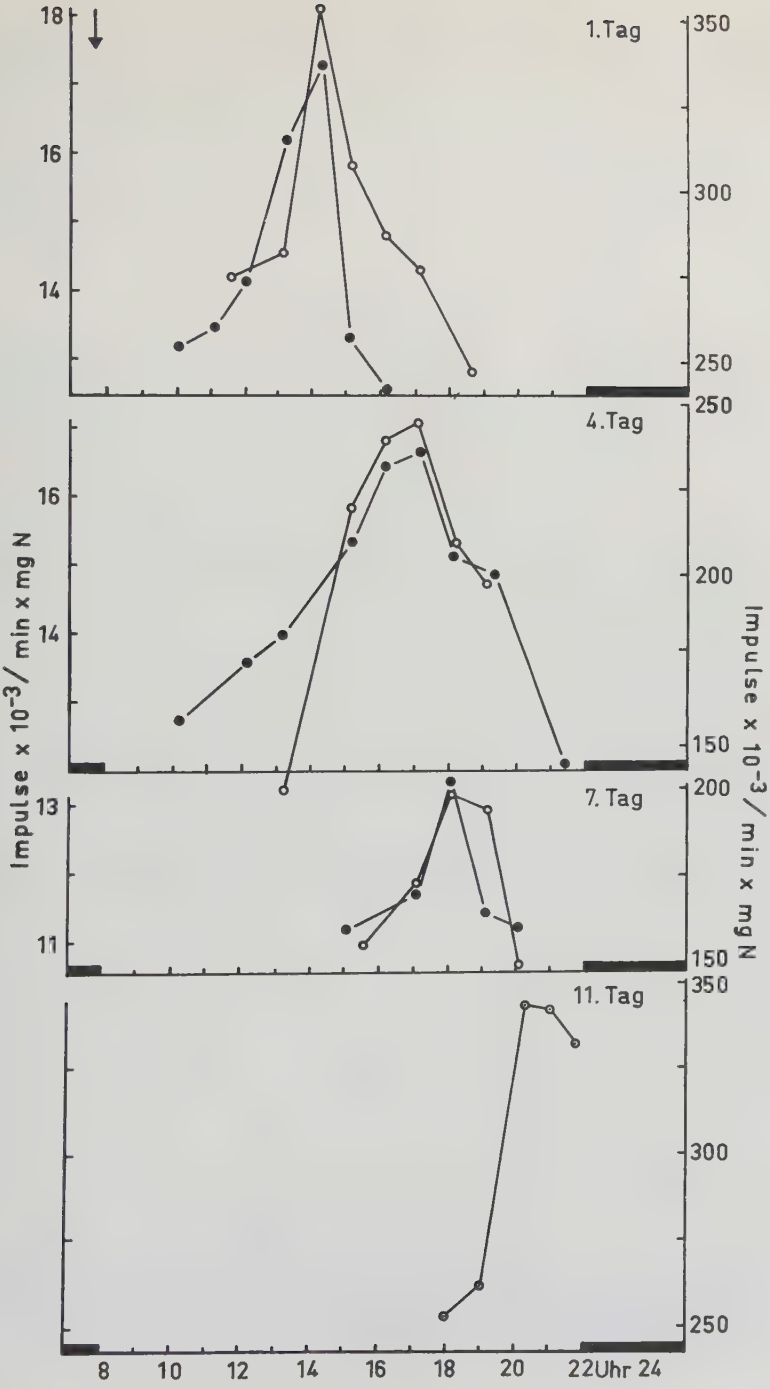
Unter der Voraussetzung der Überlagerung einer ungefähr 24stündigen und einer ungefähr 24,8stündigen Schwingung müßte neben der oben beschriebenen tagesperiodischen Komponente der Alge auch eine der zweitgenannten Art zu fassen sein. Die Phasenlage dieser anderen Komponente müßte nicht durch den tagesperiodischen Licht-Dunkelwechsel, sondern, mindestens in erster Linie, durch das nächtliche (Mond-)Licht determinierbar sein.

Für andere Algen *(Acetabularia, Gonyaulax)* wurde nachgewiesen, daß die photosynthetische Kapazität tagesperiodisch schwankt, also täglich zur gleichen Zeit im Zyklus ein deutliches Maximum der Photosynthese erkennbar wird, wenn diese zu verschiedenen Zeiten im Tagesgang mit jeweils gleichen Lichtintensitäten geprüft wird (Sweeney 1961; Hastings, Astrachan a. Sweeney 1961).

Vorversuche deuteten an, daß bei *Dictyota* ein Gipfel der photosynthetischen Kapazität nach Nachtlichteinwirkung (‚Mond') eine charakteristische tageszeitliche Verschiebung erfährt. Damit war ein Ansatzpunkt zur Untersuchung einer durch das Nachtlicht im Stoffwechsel gesteuerten Schwingungskomponente gegeben.

Die Photosynthesekapazität wurde durch Messung des Einbaus von radioaktiv markiertem $C^{14}O_2$ bestimmt. Junges, in gleichem Entwicklungszustand befindliches Material, im 14 : 10 LD-Wechsel herangezogen, bekam in der Dunkelperiode vor Versuchsbeginn Nachtlicht von 1200 Lux. Am 1., 4., 7. und 11. Tag danach wurde durch stündliche Probenentnahme gemäß der in der Einleitung beschriebenen Methode der Gang der CO_2-Einbaukapazität während der Lichtperiode untersucht. Abb. 8 zeigt die erhaltenen Werte: Am 1. Tag nach Nachtlichteinwirkung (‚Mond') zeigt sich ein Maximum der Kapazität sechs Stunden nach dem Beginn der normalen 14stündigen Lichtperiode (d. h. nach ‚Tag'-Beginn). Am 4. Tag liegt es schon etwa 2,5 Stunden später und verschiebt sich am 7. und 11. Tag um jeweils weitere 2 Stunden. Pro Tag errechnet sich daraus eine Verschiebung des Maximums von ungefähr 0,7

Abb. 8: Einbau von $C^{14}O_2$ als Maß für die Photosynthese-Kapazität am 1., 4., 7. und 11. Tag nach Nachtlichteinwirkung (‚Mond' — Pfeil vor Beginn der Lichtperiode des 1. Tages). Abszisse: Uhrzeit. Linke und rechte Ordinate: Impulse × 10^{-3}/min. × mg Stickstoff. Vom 1. bis 7. Tag sind die Ergebnisse zweier Versuchsreihen dargestellt. Bei Kurve o——o betrug die spez. Akt. der eingesetzten $NaHC^{14}O_3$-Lösung 5 mC/mM: linke Ordinatenwerte; Kurve ●——● (rechte Ordinate) zeigt das Ergebnis mit einer höheren spez. Akt. der eingesetzten $NaHC^{14}O_3$-Lösung von 25 mC/mM. Die Werte des 11. Tages wurden mit einer eingesetzten spez. Akt. von 26,5 mC/mM erhalten.


1.Tag
4.Tag
7. Tag
11. Tag
Impulse x 10-3/ min x mg N
Impulse x 10-3/ min x mg N
8
10
12
14
16
18
20
22Uhr 24

Stunden (Abb. 9), eine Zeitspanne, die etwa der Differenz der Periodenlängen von Mondtag und Sonnentag entspricht: 24,8 — 24,0 = 0,8 Stunden.

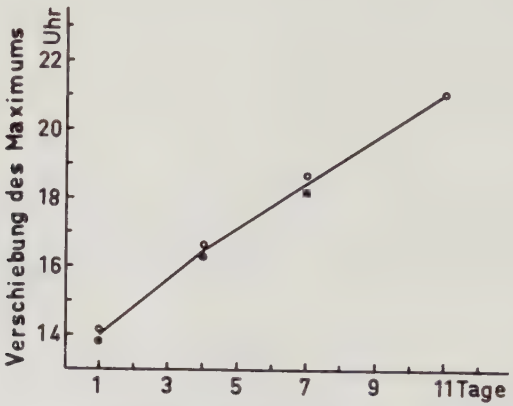


Abb. 9: Verschiebung des Photosynthese-Kapazitäts-Maximums vom 1. bis 11. Tag nach Nachtlichteinwirkung. Mittelwertskurve aus zwei Messungen.
Abszisse: Tage nach Nachtlicht.
Die Ordinate gibt die zeitliche Lage des jeweiligen Maximums und damit die tägliche Verschiebung an.

Die Beschränkung der Meßpunkte auf einige Abschnitte des vollen Tages bedingt natürlich, daß Aussagen über das Verhalten zu den anderen Zeiten nicht gemacht werden können (vgl. dazu die Diskussion).

Das Ergebnis dieser Verschiebung deutet darauf hin, daß auch bei *Dictyota* wie bei anderen tierischen Meeresorganismen in physiologischen Prozessen eine der Gezeitenrhythmik entsprechende physiologische Komponente wirksam

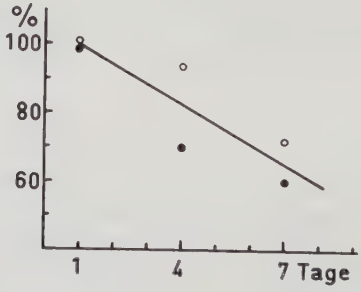


Abb. 10: Abnahme der Höhe des Photosynthese-Kapazitäts-Maximums nach Nachtlichteinwirkung. Mittelwertskurve aus zwei Messungen.
Abszisse: Tage nach Nachtlichtgabe. Ordinate: Relative Höhen der Maxima.

ist, die aber nicht unmittelbar von den Gezeiten, sondern vom Mondlicht gesteuert wird.

Erwähnt muß werden, daß die Höhe des Photosynthese-Kapazitäts-Maximums vom 1. bis 7. Tag abnimmt (Abb. 10; die Meßwerte des 11. Tages liegen vergleichsweise höher, da in der eingesetzten $NaHC^{14}O_3$-Lösuig eine höhere spezifische Aktivität vorlag); eine Erklärung für diese Abnahme wird noch diskutiert.

Diskussion

Mit den beschriebenen Versuchsergebnissen werden die Experimente und Schlußfolgerungen Müllers (1962) bestätigt bzw. weiter ausgebaut. Die neuen Versuche zeigen, daß tatsächlich eine einmalige Nachtlichtgabe bis hinunter zu einer Intensität von 0,3 Lux (Intensität des Vollmondlichtes: ungefähr 0,3 Lux) ausreicht, um die Oogonentleerung von *Dictyota dichotoma*, die seit mehreren Jahren in Laboratoriumsbedingungen ohne Gezeiteneinfluß kultiviert wird, in periodischen Abständen von etwa 15 Tagen ablaufen zu lassen und dabei die Lage der Maxima zu determinieren.

Innerhalb der täglichen Dunkelzeit (‚Nacht') ist keine Zeitspanne durch eine besondere Empfindlichkeit für die Aufnahme des steuernden Lichtreizes ausgezeichnet. Auf den natürlichen Standort der Alge übertragen, bedeutet dies, daß auch bei wechselnder Bewölkung die Auslösung der Periodik durch das Mondlicht möglich wird. Da zudem die so ausgelöste Periodik mit der gleichzeitig determinierten Phasenlage mehrere Monate ohne erneuten ‚Mond' nachschwingt, ist in der freien Natur auf jeden Fall die Fixierung der Eientleerung auf ganz eng begrenzte Zeiten gesichert. Auf die ökologische Bedeutung dieser auch für andere Meeresorganismen beschriebenen, lunar gesteuerten Vorgänge ist oft hingewiesen worden (Korringa 1947, Bünning 1963). Die mit der Überlagerung zweier Schwingungen gekoppelte Fähigkeit zur Zeitmessung längerer Perioden verhilft zur Konzentrierung der Befruchtungsvorgänge auf wenige Tage innerhalb eines Mondzyklus. Durch die Wirkung einer tagesperiodischen Komponente werden diese Vorgänge oft noch auf wenige Minuten im Tagesgang beschränkt. Eine erhöhte Befruchtungsmöglichkeit ist damit garantiert.

Ein bestimmtes Pigment kann für die Aufnahme des steuernden Nachtlichtreizes nicht genannt werden, da unabhängig von der Wellenlänge des während der Dunkelzeit eingestrahlten Lichtes (im Bereich von 400—650 mμ) dieses zur Steuerung der Phasenlage der semilunaren Rhythmik genutzt wird.

Einleitend wurde schon auf die Beteiligung der endogenen Tagesrhythmik und der dem lunaren Tag folgenden Gezeitenrhythmik am Zustandekommen

der semilunaren Periodizität hingewiesen (Fingerman 1960; Bünning 1963). Eine endogen-tagesperiodische Komponente gibt sich bei *Dictyota* eindeutig durch die innerhalb des Licht-Dunkel-Zyklus zu genau definiertem Zeitpunkt eintretende Oogonentleerung zu erkennen. Denn wie beschrieben, erfolgt die Eientleerung 15—20 Minuten nach Lichtbeginn und ist schon nach weiteren 15 Minuten beendet. Die Fortsetzung dieser Periodik im Dauerlicht (mit etwas verkürzter Zyklenlänge) und die Reaktion auf Störlichtgabe gestattet die Einordnung dieses Vorgangs in die Reihe anderer endogen-tagesperiodischer Phänomene (vgl. Bünning 1963).

Der eigentliche Ablauf der Eientleerung ist lichtabhängig und zeigt damit analoges Verhalten zu anderen Sporen- und Schwärmerentleerungen, z. B. auch dem Abschuß von Pilobolus-Sporangien. Auch hier ist eine Reaktionszeit von etwa 15 Min. nötig. Wie die Störlichtversuche angedeutet haben, ist nicht jeder Zeitpunkt im Zyklus geeignet, diesen für den tagesperiodischen Vorgang der Eientleerung nötigen Lichtreiz aufzunehmen. Das Licht ist also hierbei zwar als exogener Faktor unentbehrlich, aber nur in den empfindlichen Phasen des Zyklus der endogenen Tagesrhythmik, in dem vorliegenden Fall phasenregulierend nur im letzten Drittel der Dunkelzeit wirksam.

Eine lunare Komponente, der Gezeitenrhythmik mit Periodenlängen von 12,4 bzw. 24,8 Stunden entsprechend, wie sie bei mehreren tierischen Meeresorganismen in der Bewegungsaktivität oder in Stoffwechselprozessen gefunden wurde (Naylor 1958, 1960; Blume, Bünning u. Müller 1962 u. dort zitierte Lit.), haben die Untersuchungen der Photosynthese-Kapazität nun auch für *Dictyota* aufgezeigt. Sie kommt in der Verschiebung eines Photosynthese-Kapazitäts-Maximums nach Nachtlichteinwirkung um täglich etwa 0,7 Stunden zum Ausdruck. Neben der Verschiebung fällt die kontinuierliche Abnahme der Höhe des Maximums vom 1. bis 7. Tag nach Nachtlicht auf (siehe Abb. 8). Dies spricht für eine Überlagerung zweier Schwingungen: Durch das Nachtlicht wird im Stoffwechsel der Alge ein von der Tagesrhythmik weitgehend unabhängiges Schwingungssystem angestoßen, das jetzt mit einer Periodenlänge von etwa $2 \times 12{,}4 = 24{,}8$ Stunden die 24stündige Periodik überlagert. Dadurch wird von dem geprüften Photosynthesemaximum, das normalerweise zum gleichen Zeitpunkt im Tageszyklus auftritt, täglich ein Teil ‚abgeschnitten' (vgl. Schema Abb. 11). Dies wäre eine Erklärung für die Verschiebung und gleichzeitige Abnahme des Maximums.

Es kann nach diesen Versuchen nicht behauptet werden, daß die photosynthetische Kapazität nur von der Gezeitenrhythmik beeinflußt wird. Eine zusätzliche Beeinflussung durch die diurnale Rhythmik ist nicht nur denkbar, sondern auf Grund der Untersuchungen an anderen Objekten sogar wahrscheinlich. Die benutzten Methoden genügten nicht, um bei der relativ geringen Menge des verfügbaren Materials diese Frage durch kontinuierliche

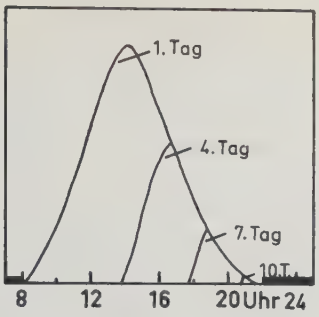


Abb. 11: Schema: Abnahme der Höhe des Maximums der Photosynthese-Kapazität durch Überlagerung einer durch das Nachtlicht angeregten $2 \times 12{,}4 = 24{,}8$stündigen Periodik, die das Maximum täglich etwa 0,8 Stunden später mit verminderter Höhe auftreten läßt.

Messungen der CO_2-Einbau-Kapazität über ganze Tageszyklen oder gar ganze lunare Zyklen zu klären. Es war eine Beschränkung auf die in Abb. 8 angegebenen Tagesabschnitte erforderlich. Eine weitere Klärung mit Methoden, die eine kontinuierliche Messung an geringen Materialmengen gestatten, wäre wünschenswert.

Bei Überlagerung der 24,8stündigen lunaren und der 24stündigen diurnalen Schwingungskomponente mit einer Periodendifferenz von täglich etwa 0,8 Stunden muß eine gleiche Phasenkonstellation, die für die Ausschüttung der Eier aus den Oogonien verantwortlich zu sein scheint, jeweils in Abständen von ungefähr 15 Tagen wieder auftreten.

Die Verkürzung bzw. Verlängerung der Zyklen der Eientleerung bei Darbietung ‚falscher' Tage von 23,0 und 24,5 Stunden bekräftigt diese Schlußfolgerung weiterhin. Hier tritt der Zustand dieser bestimmten Phasenkonstellation, also die ‚Schwebung', im verkürzten Tag eher, im verlängerten Tag entsprechend später ein. Die Verkürzung bzw. Verlängerung müßte noch viel größer, als im Experiment gezeigt, sein, wenn man annimmt, daß sich die tagesperiodische Komponente den ‚falschen' Tagen voll einordnet, die endogene Gezeitenkomponente aber genau so wie im Normaltag weiterläuft. Offenbar ist das aber nicht der Fall, jedoch auch nicht zu erwarten, da, wie die Mondlichtwirkungen gezeigt haben, wenigstens einige Phasen dieser Komponente vom Licht stark beeinflußt werden. Zur quantitativen Erfassung dieser Veränderungen wäre ein experimenteller Aufwand erforderlich, der mit den bisher benutzten Methoden nicht realisierbar ist.

Zusammenfassung

1. Die Auslösung der semilunaren Rhythmik der Oogonentleerung von *Dictyota dichotoma* ist unter kontrollierten Bedingungen im Laboratorium (14 Stdn. Licht, 10 Stdn. Dunkel) noch bei einer einmaligen Nachtlichteinwirkung (‚Mond') von 0,3 Lux möglich.

Das ‚Mondlicht' muß nicht während der ganzen Dunkelzeit (‚Nacht') wirken; einige Stunden zu Anfang, in der Mitte oder gegen Ende der ‚Nacht' genügen ebenfalls.

Alle geprüften Wellenlängen der Strahlung zwischen 400 und 650 mμ erwiesen sich hierbei als wirksam.

2. Darbietung verkürzter Tage von 23 Stdn. (13,5 Stdn. Licht : 9,5 Stdn. Dunkel) hat eine Periodenverkürzung von 14—15 auf 11—12 Tage zur Folge. Darbietung verlängerter Tage von 24,5 Stdn. (14,25 Stdn. Licht : 10,25 Stdn. Dunkel) bewirkt eine Periodenverlängerung auf 16—17 Tage.

3. Die Eientleerung beschränkt sich im Tagesgang auf 15 Minuten, einsetzend etwa 20 Minuten nach Lichtbeginn.

Im Dauerlicht (1200 Lux) setzt sich die Entleerung noch über 3—4 Tage unter Abnahme der Zyklenlänge auf etwa 23 Stunden fort.

Für Störlicht während der Dunkelzeit (‚Nacht') ist diese tagesperiodische Komponente unterschiedlich empfindlich. Die stärkste Beeinflussung, Einsteuerung in eine neue Phasenlage, geschieht durch Störlicht nur gegen Ende der Dunkelzeit.

4. Einmalig gegebenes Nachtlicht bewirkt eine Verschiebung eines täglichen Maximums der photosynthetischen Kapazität (d. h. der $C^{14}O_2$-Bindungsfähigkeit) um etwa 0,7 Stdn./Tag. Die tägliche Verschiebung entspricht ungefähr der Differenz der Periodenlänge von lunarer (24,8stündiger) und diurnaler (24,0stündiger) Komponente.

Eine kontinuierliche Abnahme der Höhe dieses Photosynthesemaximums spricht, zusammengesehen mit der Verschiebung des Maximums um täglich etwa 0,7 Stunden, für die Deutung durch Überlagerung von einer endogenen Gezeiten- und einer diurnalen Schwingungskomponente.

5. Das Zustandekommen der semilunaren Rhythmik der Oogonentleerung durch Überlagerung von diurnalem und lunarem Schwingungssystem wird diskutiert.

Herrn Prof. Dr. E. Bünning danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und sein stetes Interesse an ihrem Fortgang, Herrn Dozent Dr. G. Richter für technische Unterstützung bei der Versuchsdurchführung.

Literatur

Blume, J., E. Bünning u. D. Müller: Biol. Zbl., **81**, 569—573 (1962).
Bünning, E.: Die physiologische Uhr, 2. Aufl., Berlin 1963.
Bünning, E. u. D. Müller: Z. Naturforsch., **16b**, 391—395 (1961).
Caspers, H.: Arch. Hydrobiol. Suppl., **18**, 415—594 (1951).
Cloudsley-Thompson, J. L.: Rhythmic Activity in Animal Physiology and Behaviour, New-York - London (1961).
Enright, J. T.: Z. vergl. Physiol., **46**, 276—313 (1963).
Fingerman, M.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **25**, 481—487 (1960).
Hastings, J. W., L. Astrachan and B. M. Sweeney: J. Gen. Physiol., **45**, 69—76 (1961).
Hauenschild, C.: Z. Naturforsch., **10b**, 658—662 (1955).
Hauenschild, C.: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., **25**, 491—497 (1960).
Korringa, P.: Ecol. Monogr., **17**, 347—348 (1947).
Mohr, H. u. G. Schoser: Planta, **46**, 534—551 (1959).
Müller, D.: Botan. Marina, **4**, 140—155 (1962).
Naylor, E.: J. Exper. Biol., **35**, 602—610 (1958).
Naylor, E.: J. Exper. Biol., **37**, 481—488 (1960).
Sweeney, B. M.: Science, **134**, 1361 (1961).

Vera Vielhaben, Botanisches Institut der Universität, 74 Tübingen, Wilhelmstraße 5.

LEBENSLAUF

1939	Als Tochter des Rechtsanwalts Carl Vielhaben und seiner Ehefrau Ellen, geb. Lampe, in Hamburg geboren.
1943-45	Aufenthalt in Vögelsen bei Lüneburg.
1945-47	Volksschulbesuch in Hamburg.
1947-58	Besuch der Freien Waldorfschule in Hamburg bis zum Abitur.
1958	Beginn des Studiums der Biologie in Hamburg.
1958-61	Fortsetzung des Studiums an der Universität München.
seit 1961	Studium in Tübingen und Beginn der Promotionsarbeit im Botanischen Institut unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Bünning.

Meine akademischen Lehrer waren folgende Herren Professoen und Dozenten:

in Botanik: Brauner, Bünning, Kaudewitz, Mägdefrau, Merxmüller, Metzner, Mevius.

in Zoologie: Autrum, Caspers, Grell, Kaestner, Kosswig, Möhres, Lorenz, Risler, Schwartzkopf.

in Chemie: Huisgen, Remy, Wiberg, Wille.

in Physiologischer Chemie: Lynen, Weitzel.